

«Визуализация кислородопроницаемости дубовой древесины винных бочек с помощью оптических датчиков и цветной камеры»

NEVARES1, R. CRESPO, C. GONZALEZ and M. DEL ALAMO-SANZA

Введение

Кислород является важнейшим элементом в процессе выдержки вина в дубовых бочках, и на протяжении многих лет имеются доказательства того, что кислород проникает в дубовые бочки и переходит в вино (Ribéreau-Gayon 1933). Однако лишь немногие исследования изучали поступление кислорода через бочку в процессе выдержки вина, при этом только две публикации сообщают об экспериментальных измерениях поступления кислорода в бочку. В первой из них (Vivas и Glories, 1997) было количественно определено скорость поступления кислорода в две бочки путем измерения H_2SO_4 , образующейся при окислении SO_2 , где на 1 моль потребленного O_2 образуется 2 моль H_2SO_4 . Это измерение позволило определить общее количество кислорода, потребленного внутри бочки за 6 месяцев, а также выявило влияние географического происхождения дуба и состояния дуба (новая бочка против использованной). Это было единственное исследование, в котором на основе анализа двух бочек был установлен путь поступления кислорода в вино; авторы оценили, что 21% кислорода поступает через заливное отверстие, 63% — через щели между клепками и уторы, и лишь 16% — через дубовую древесину. Помимо этого исследования, была найдена только одна публикация (Vivas и др., 2003), в которой сообщалось о проницаемости дубовых древесных образцов для атмосферного кислорода в различных условиях. В этой работе измерялось влияние влагосодержания (ВС) древесины на её проницаемость для кислорода; было показано, что проницаемость сухой древесины в 20–100 раз выше, чем влажной, хотя авторы не уточнили конкретное значение ВС дуба. Однако Синглтон (1995) постулировал, что поступление кислорода в бочку происходит только через щели между деревянными клепками, из которых собрана бочка, а также в процессе долива или переливки. Синглтон оспорил представление о том, что кислород проникает через древесину, утверждая, что кислород, проходящий через дерево из внешней среды, будет потреблён компонентами вина, пропитавшими древесину, или окисляемыми соединениями в самой древесине, такими как галловая кислота и её производные, ещё до того, как достигнет вина внутри бочки. Продукты окисления этих соединений полимеризуются и образуют слои коричневатых веществ, которые наблюдались на внутренней поверхности старых бочковых клёпок. Кроме того, Вивас и Глори (1996) продемонстрировали роль эллагитаннинов как регуляторов окисления вина и признали их функцию поглотителей кислорода.

Измерение растворённого кислорода (РК) с использованием оптических методов в последние годы привлекает всё больший интерес, главным образом благодаря снижению стоимости электронных компонентов, что позволило разработать недорогое, более компактное и, прежде всего, простое в управлении оборудование. Эти инструментальные достижения способствовали разработке новых сенсорных материалов для наблюдения за тушением флуоресценции в присутствии кислорода (Wang и Wolfbeis, 2012). Кислород обычно измеряется в точечном положении на образце, поэтому для оценки двумерного распределения РК необходимо использовать несколько точек измерения (Nevares и др., 2010), чтобы получить точное представление обо всём образце. Для измерения РК в нескольких позициях в таком материале, как древесина, использовались микроэлектроды кларковского типа (Del Hierro и др., 2002), в которых кислород диффундирует от точки введения микрозонда к электроду через проницаемую мембрану. Также использовались микрозонды микрооптодного типа, состоящие из оптических волокон, один конец которых покрыт люминофором, чья флуоресценция тушится в присутствии кислорода (Soriz и Hietz, 2008). Обе системы являются интрузивными, нарушая структуру исследуемого материала и тем самым препятствуя сбору данных в течение

длительного периода времени. Разработка методов, позволяющих визуализировать конкретные молекулы в физиологических процессах в реальном времени с использованием флуоресцентных оптических датчиков, улучшила наше понимание таких типов материалов, и этот подход в последние годы приобретает всё большее значение (Tschiersch и др., 2012). Фундаментальное преимущество таких методов заключается в их широком пространственном охвате (от мм² до см²), неинтрузивности, высоком разрешении и способности проводить измерения в временном масштабе от секунд до дней.

В данном исследовании двумерное (2D) пространственное распределение и динамика РК измерялись с использованием кислородной визуализации для характеристики поступления кислорода через дубовые клёпки в бочке. Измерение распределения кислорода на границе раздела, образованной шириной клёпки, контактирующей с воздухом с одной стороны и с жидким содержимым бочки с другой, позволило визуализировать перенос кислорода путём диффузии через дубовую древесину и показало важность влагосодержания древесины для конечного значения скорости переноса кислорода (OTR) через дубовые клёпки.

Материалы и методы

Оборудование для измерения растворённого кислорода

Инструменты, использованные в данном исследовании, были основаны на оптических системах, использующих динамику тушения флуоресценции. Первый прибор представлял собой планарный кислородный датчик размером 40 × 40 мм² (SF-RPSU4; PreSens GmbH, Регенсбург, Германия), соединённый с детекционным микроскопом [USB VisiSens (PreSens GmbH)] (Tschiersch и др., 2012). Хотя программное обеспечение VisiSens AnalytiCal 1 (PreSens GmbH) управляло настройками камеры, потребовалась предварительная калибровка камеры относительно чувствительности цветового канала. Захваченные 24-битные изображения с разрешением 1280 × 1024 пикселей (1,3 мегапикселя) сохранялись в формате PNG. Камера размещалась на расстоянии 2 см от датчика с полем обзора 15 × 12 мм, что обеспечивало виртуальное разрешение 12 мкм. Пространственное разрешение составляло 20 мкм и определялось боковой диффузией кислородного датчика внутри сенсорного слоя. Программное обеспечение управляло захватом изображений и генерировало карты распределения кислорода на основе сигнала ответа датчика, для чего датчик калибровался по двум калибровочным точкам. Оптические свойства источника света, а также возбуждающие и эмиссионные фильтры были адаптированы к сигналам флуоресцентного ответа кислородного зонда (Tschiersch и др., 2011). Вторым прибором, выбранным для данной работы, был Fibox3 LCD Trace (PreSens GmbH), относящийся к серии Oxi-trace, в комплекте с датчиком следовых количеств кислорода, покрытым PSt6, с пределом обнаружения кислорода 1 мкг/л, 0–4,2% (PreSens GmbH). Эти два прибора позволили проводить неинтрузивное измерение концентрации растворённого кислорода. Однако существуют различия в способах, которыми приборы используют динамическое тушение флуоресценции (Kautsky, 1939), являющееся общим принципом работы обоих. Прибор, использующий датчик PSt6, измерял задержку между излучением и детектированием сигнала люминофора, который тушится молекулярным кислородом. Это тушение коррелирует с концентрацией кислорода или парциальным давлением кислорода на поверхности датчика, которое, в свою очередь, находится в равновесии с кислородом в образце. Таким образом, данный прибор для кислородной визуализации использует корреляцию между интенсивностью излучения-приёма люминофора и наличием или отсутствием кислорода (Klimant и др., 1999). Чтобы избежать неточностей, которые могут возникать при таких корреляционных измерениях (Kühl и др., 2007), использовалась отношенческая калибровка (ратиометрическая), при которой сенсорный элемент состоит из люминофорного вещества и эталонного материала, причём оба вещества закреплены в полимерной матрице с образованием чувствительного слоя. Взаимодействие между молекулами индикатора и молекулами кислорода тушит красную флуоресценцию красителя, что указывает на передачу энергии от возбуждённого люминофора к молекуле кислорода при столкновении. В результате сигнал люминофора уменьшается с увеличением концентрации кислорода, тогда как сигнал эталонного вещества не зависит от

кислорода и имеет постоянную интенсивность. Во время измерения эталонное соединение и люминофор возбуждаются одним и тем же источником света [синие светодиоды (LED), встроенные в USB-микроскоп], но излучают свет на разных длинах волн. Люминофор излучает красный свет, а эталонное соединение — зелёный; эти сигналы улавливаются соответственно красным и зелёным датчиками красно-зелёно-синего (RGB) чипа камеры в одном изображении. Концентрация растворённого кислорода определялась с использованием отношения значений красного и зелёного каналов полученного RGB-изображения. Этот метод устраняет основные источники помех, обусловленные неоднородной интенсивностью и цветом синих светодиодов, вариацией концентрации люминофора на поверхности датчика и различиями в толщине поверхности планарного кислородного датчика. Концентрация кислорода рассчитывалась из этого отношения путём калибровки сигнала датчика, полученного при воздействии на датчик известных значений концентрации кислорода. Линейная модель Штерна–Фольмера была встроена в программное обеспечение и позволяла отображать значения концентрации кислорода на изображениях (Tschiersch и др., 2011, 2012). Калибровка приборов проводилась в соответствии с инструкциями производителя, и перед каждым исследованием калибровки проверялись и при необходимости корректировались с учётом возможного дрейфа датчика.

Измерение влагосодержания древесины

Влагосодержание древесины (с минимальным значением ВС 5%) измерялось с помощью прибора Brookhuis Micro Electronics MCM (Энсхеде, Нидерланды) — многоканального датчика с возможностью измерения высоких значений сопротивления. Этот прибор одновременно измерял сигналы с 16 каналов, подключённых к электродам, которые, будучи расположенными попарно, позволяли проводить измерения в восьми точках в диапазоне влажности 5–99% при 20°C (от 100 ГОм до 10 кОм) с точностью $\pm 2\%$. Используемая калибровка была разработана специально для дуба (Fernandez, 2013). Нержавеющие стальные электроды были полностью электрически изолированы, за исключением одного конца для подключения и другого конца для непосредственного измерения в точке введения в древесину. Электроды вводились в древесину через предварительно просверлённое направляющее отверстие, которое затем герметизировалось эпоксидной смолой во избежание проникновения влаги. Для измерения сопротивления два электрода с расстоянием 3 см друг от друга вводились на четырёх глубинах (2,5, 5, 7 и 10 мм) со стороны клёпки, контактирующей с жидкостью. Для этих измерений использовался другой кусок древесины из той же клёпки, размещённый вплотную к образцу, использовавшемуся для измерения кислородных изображений. Этот фрагмент клёпки был гидроизолирован со всех сторон, за исключением наружной (воздушная сторона бочки) и обожжённой (жидкостная сторона бочки) поверхностей, которые находились в контакте с водой для контроля влагосодержания. Используемая калибровка была разработана специально для дуба (Fernandez, 2013).

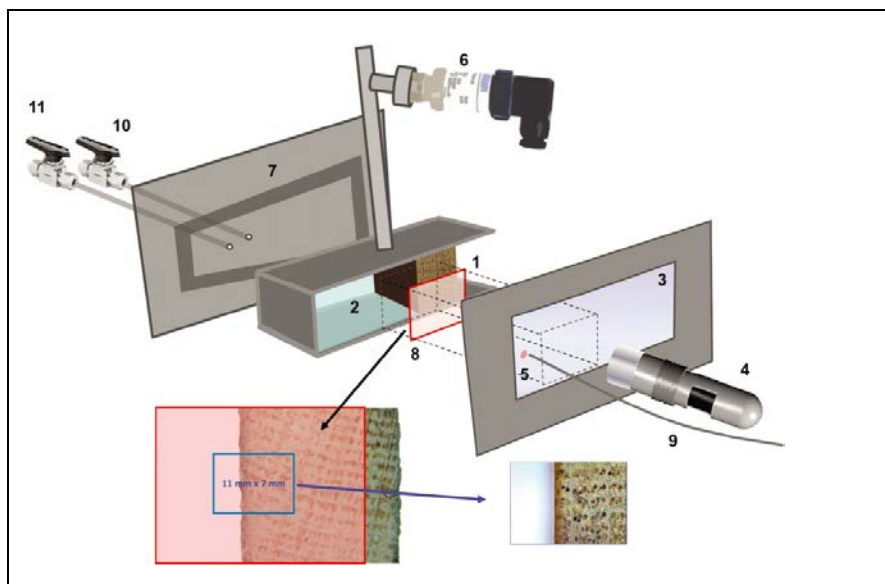


Рисунок 1. Схема установки для измерения скорости переноса кислорода через древесину от внешней стороны к внутренней стороне клёпки в условиях, приближенных к эксплуатационным в бочке, с учётом водонасыщения древесины. (1) фрагмент дубовой бочковой клёпки толщиной 27 мм; (2) камера с жидкостью; (3) стекло; (4) USB-микроскоп; (5) точечный датчик Pst6; (6) датчик давления; (7) боковая стенка из нержавеющей стали; (8) планарный оптод; (9) оптическое волокно; (10, 11) газовые клапаны.

Планирование эксперимента

Проницаемость древесины для кислорода измерялась с помощью устройства, обычно используемого для измерения газопроницаемости мембран (ASTM 2005, 2007a,b), которое, как правило, состоит из двух камер, разделённых исследуемой древесиной. Новизна экспериментальной конструкции заключалась в способе заполнения камер и установлении начальных условий эксперимента. Может использоваться градиент давления, описываемый законом Дарси, при этом результирующий поток газа выражается в $\text{м}^3/(\text{м} \cdot \text{с} \cdot \text{Па})$. Кроме того, можно также учитывать разность парциальных давлений кислорода по обе стороны древесины, что представляет собой диффузионное явление. В последнем случае возникает молекулярный поток, описываемый первым законом Фика, выражаемый в $\text{м}^2/\text{с}$ (Siau, 1984). Именно этот механизм преобладает в бочках вследствие возникающего градиента парциального давления кислорода (Kelly и Wollan, 2003). Одна из камер, разделённых древесиной, может заполняться воздухом, а другая — азотом, что создаёт градиент парциального давления кислорода, аналогичный тому, который возникает в пустой бочке (Vivas и др., 2003; Sorz и Hietz, 2006). Для ускорения процесса вместо воздуха можно использовать кислород при условии, что расход кислорода (газа-донора) и азота (газа-носителя), подаваемых к кислородному анализатору, является постоянным (Vivas и др., 2003). Эта схема обычно используется для испытания проницаемости слоёв (ASTM 2005, 2007a,b). Влагосодержание образца играет решающую роль в диффузии кислорода в древесине и поэтому должно учитываться (Siau, 1984, 1995; Vivas и др., 2003; Sorz и Hietz, 2006). В связи с этим нашей группой было разработано устройство, воспроизводящее условия внутри бочки, в котором жидкость контактирует с обожжённой внутренней поверхностью клёпки, а атмосфера — с внешней поверхностью клёпки (Del Alamo-Sanza и Nevares Domínguez, 2012). Это устройство также поддерживает соотношение площади поверхности древесины к объёму жидкости, аналогичное таковому в бочке. Для определения скорости переноса кислорода через древесину в условиях эксперимента использовалась система измерения кислорода с датчиками Pst6. Одна сторона устройства выполнена из стекла (кристалла), через которое производится считывание концентрации растворённого кислорода с помощью оптических систем (Рисунок 1). Устройство содержит трубку из нержавеющей стали высотой 40 см с датчиком давления (Transmitter S-10, Wika, Лоренсвилл, Джорджия, США), который измеряет и регулирует гидростатическое давление до уровня, соответствующего давлению в клёпке в средней части бочки.

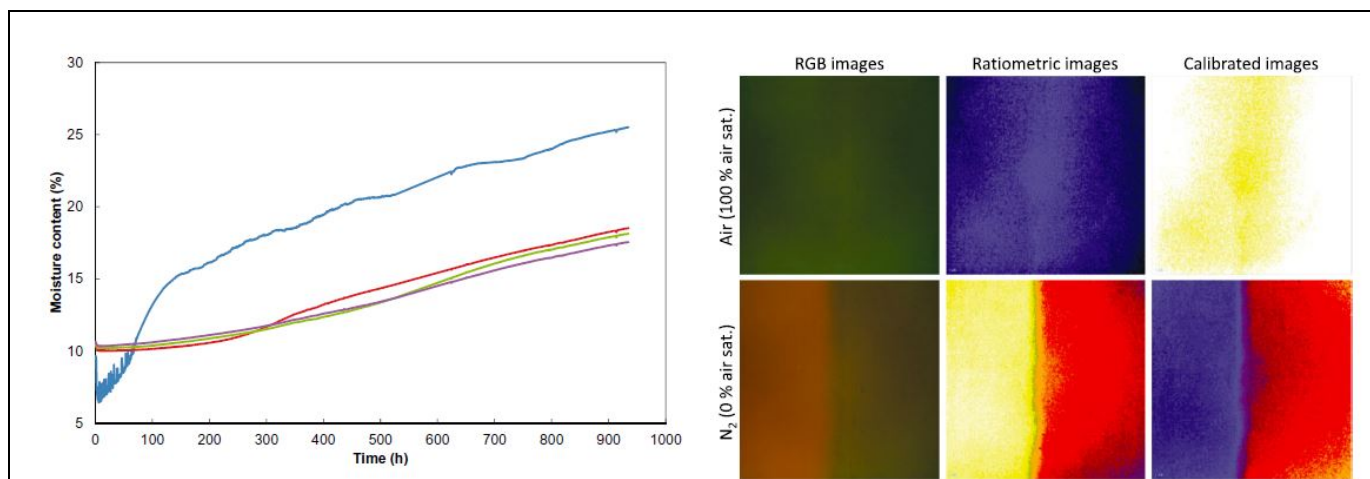


Figure 2. The increase in moisture content of a stave at a depth of 2.5 (—), 5 (—), 7.5 (—) and 10 (—) mm from the surface of the stave in contact with the liquid.	Figure 3. Captured [red, green and blue (RGB)] and processed (radiometric and calibrated) images during calibration for each of 100% air saturation (top panels) and 0% air saturation (bottom panels).
Рисунок 2. Увеличение влагосодержания клёпки на глубине 2,5 (—), 5 (—), 7,5 (—) и 10 (—) мм от поверхности клёпки, контактирующей с жидкостью.	Рисунок 3. Изображения, полученные в процессе калибровки: исходные (в формате RGB — красный, зелёный, синий) и обработанные (радиометрические и откалиброванные) для условий 100% насыщения воздухом (верхние панели) и 0% насыщения воздухом (нижние панели).

Процедура проведения эксперимента

Из бочки из французского дуба (*Quercus petraea*) со средней степенью обжига была отобрана клёпка с однородной структурой и распределением сердцевинных лучей, параллельных поверхности контакта жидкости с клёпкой в бочке. Из этой клёпки был вырезан образец размером $40 \times 70 \times 27$ мм, который закреплялся в устройстве с помощью винтов с минимально необходимым усилием затяжки. Планарный кислородный датчик размещался в контакте с жидкостью и древесиной (Рисунок 1), а точечный датчик PSt6 крепился в центре прозрачной поверхности камеры, заполненной жидкостью. Герметичность камеры устройства проверялась путём закрепления в устройстве металлического элемента той же формы, что и образец клёпки, вместо деревянного образца. Камера устройства заполнялась N_2 , и поступление растворённого кислорода контролировалось в течение 24 ч. Кроме того, изменение давления подтверждалось с помощью датчика давления. После подтверждения герметичности устройства и перед каждым экспериментом точность планарного кислородного датчика (SF-RPSU4) в контакте с воздухом (100% насыщение воздухом) проверялась при заполнении камеры устройства атмосферным воздухом в условиях климат-контролируемого винодельческого погреба ($15^\circ C$, 80% влажность). Затем весь воздух вытеснялся азотом (99,9992%, Carbueros Metálicos, Барселона, Испания), и устройство выдерживалось в этих условиях не менее 2 часов для постепенной дегазации древесины от внутренней стороны к внешней стороне дубовой клёпки. После этого камера устройства заполнялась чистой водой, дегазированной азотом, до достижения стабильного показателя 0% насыщения воздухом. Вода использовалась вместо вина, поскольку кислородпоглощающие соединения вина не позволили бы измерить количество кислорода, доставляемого в вино. Водорастворимые древесные соединения, способные поглощать кислород, такие как эллагитаннины, учитываются для точного воспроизведения условий, аналогичных условиям в бочке, поскольку в противном случае количество кислорода, достигающего вина через древесину, могло бы быть завышено. Для воспроизведения условий, при которых в бочке происходит наибольшая передача кислорода (Moutounet и др., 1994, 1998), давление внутри камеры, заполненной жидкостью, регулировалось с помощью шприца до значения -100 гПа в газовом пространстве системы (верхняя часть трубки, рядом с датчиком давления). Это обычное давление внутри бочки в процессе выдержки вина (Peterson, 1976). Один и тот же образец древесины исследовался в течение в общей сложности 40 дней, а его проницаемость для кислорода последовательно анализировалась в течение периодов от 1 до 12 дней в зависимости от того, насколько быстро достигался верхний предел диапазона измерения концентрации растворённого кислорода датчика PSt6. Было проведено десять последовательных экспериментов с общей продолжительностью контакта древесины с жидкостью 40 дней, что позволило увеличить влагосодержание образца древесины. Перед каждым экспериментом восстанавливались начальные условия дегазированной воды для измерения. Таким образом, стало возможным измерить диффузию кислорода в одном и том же образце древесины, но при переменном влагосодержании, поскольку влагосодержание древесины значительно увеличивалось со временем (Рисунок 2). Такая процедура гарантировала, что градиент парциального давления кислорода внутри и снаружи устройства никогда не опускался ниже 90% от градиента, наблюдаемого в бочке (Piringer и Baner, 2000).

USB-микроскоп был запрограммирован на захват изображений каждые 10 минут. Эти временные точки чередовались с измерениями концентрации растворённого кислорода люминесцентной системой во избежание интерференции. Показания концентрации растворённого кислорода в жидкости, полученные с помощью точечного датчика PSt6,

использовались для расчёта скорости переноса кислорода (OTR) через древесину для каждого эксперимента при различном влагосодержании древесины.

Одновременно в том же помещении и при одинаковых условиях температуры и влажности изменение влагосодержания древесины, контактирующей с водой, измерялось в двух повторениях, как описано выше.

Обработка изображений

Обработка изображений выполнялась с помощью программного обеспечения AnalytiCal-1 путём преобразования захваченных RGB-изображений в ратиометрические изображения и последующего их перевода в откалиброванные изображения, в которых цвет указывает на содержание растворённого кислорода в соответствующей области фотографии (Рисунок 3). Эти откалиброванные изображения импортировались в бесплатное программное обеспечение ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>), и все изображения преобразовывались в интерактивные трёхмерные (3D) поверхностные графики, в которых вертикальная ось представляла концентрацию растворённого кислорода (Рисунок 4). Эти изображения поворачивались для наблюдения за профилем кислорода в пределах толщины клёпки и внутри жидкости в различные моменты времени в каждом испытании.

Круглый передний план, видимый на древесине, обусловлен освещением от кругового расположения светодиодов вокруг объектива камеры (Рисунок 3). Ратиометрическая нормировка неоднородного светового поля является основной функцией VisiSens. В получаемых ратиометрических изображениях помехи, связанные с интенсивностью, должны подавляться. Однако следует учитывать некоторые ограничения. Из-за лучшего соотношения сигнал/шум в центре изображения цветовой узор в этой области может быть «более гладким». Выбор минимального и максимального значений может усилить даже незначительные неоднородности. VisiSens использует интерференционный фильтр-заградитель, который блокирует жёлтую часть спектра. Это необходимо при измерениях с (незначительными) световыми помехами, например, от комнатного освещения, но при измерениях через сильно отражающие поверхности, в данной работе — через стекло, этот фильтр может в конечном итоге вызвать появление узора в центре изображения, как это и произошло.

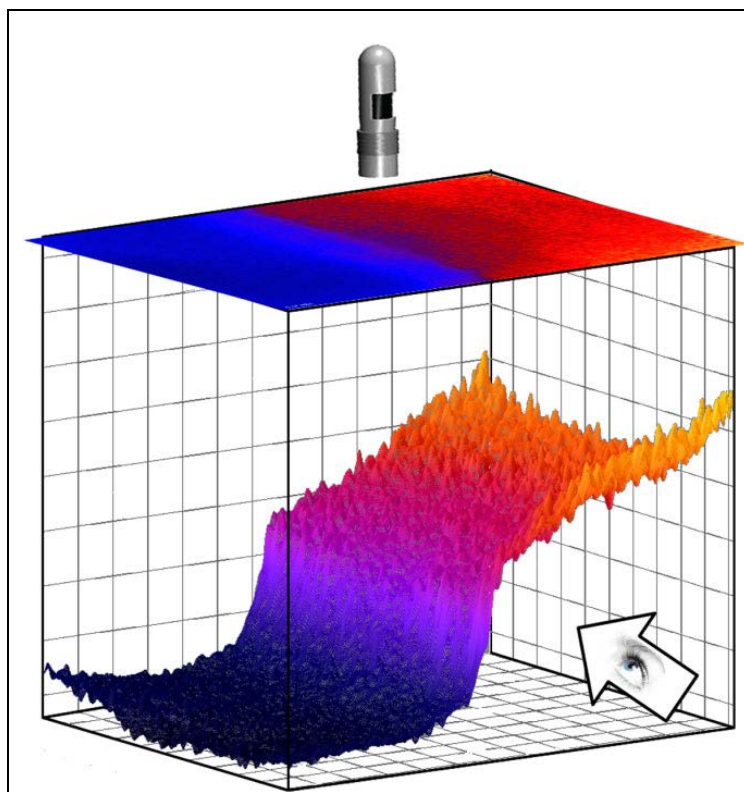
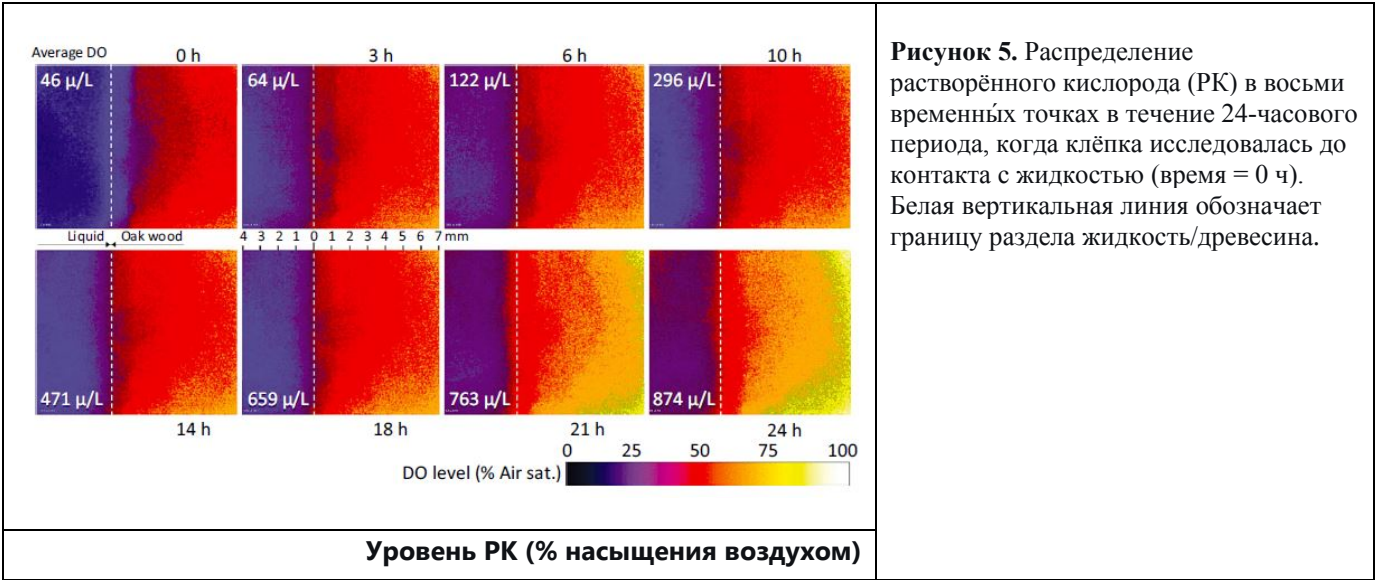


Рисунок 4. Для изучения профиля растворённого кислорода (РК) было создано трёхмерное (3D) изображение, где вертикальная ось представляет уровень РК. На границе раздела древесина–жидкость наблюдается резкое изменение содержания РК, поскольку в начале испытания жидкость была дегазирована. При повороте 3D-изображения можно увидеть профиль РК в пределах толщины клёпки.

Результаты и обсуждение

В первом эксперименте (0 ч) клёпка исследовалась до контакта с жидкостью, что соответствует первым минутам работы клёпок новой бочки, только что наполненной (Рисунок 5). Очевидно, что содержание кислорода в древесине снизилось от равновесной концентрации в присутствии атмосферного кислорода (бело-жёлтый цвет; Рисунок 3) до значения приблизительно 50% насыщения воздухом (красный оттенок) вследствие дегазации, проведённой в начале каждого испытания. Аналогично, зона древесины, затронутая процессом обжига (обычно толщиной от 1 до 5 мм), находилась в равновесии с дегазированной водой, и поэтому первый миллиметр древесины, контактирующий с жидкостью, имел синие оттенки, соответствующие значению растворённого кислорода не более 15% насыщения воздухом. Эти наблюдения подтверждаются значениями изменения влагосодержания в зависимости от времени контакта древесины с водой, измеренными одновременно на соседнем фрагменте клёпки (Рисунок 2). Зона древесины, затронутая обжигом (2,5 мм), имела начальное влагосодержание 7%, тогда как остальная часть древесины имела влагосодержание 10–10,5% (Рисунок 2). Кроме того, влагосодержание в зоне обжига изменялось иначе, чем в остальной части древесины клёпки. Этот результат позволяет предположить, что структура обожжённой древесины была модифицирована в процессе обжига, а влагосодержание снизилось, что означает, что диффузионная способность кислорода выше в более сухой древесине (Sorzi и Hietz, 2006). Этот результат совпадает с данными, полученными Nugi и др. (2007), в которых степень обжига влияла на проницаемость дубовой древесины для кислорода.



После 3 ч контакта древесины с водой (Рисунок 5) распределение растворённого кислорода начало меняться. Кроме того, наблюдалось значительное увеличение содержания растворённого кислорода в зоне обожжённой древесины — переход от синих к красным оттенкам, а концентрация растворённого кислорода в слое жидкости, контактирующем с древесиной, также увеличилась, но в меньшей степени, приобретая фиолетовый цвет. Было отмечено, что общее содержание растворённого кислорода в жидкости увеличивалось по мере включения кислорода, выделяющегося из древесины, о чём свидетельствует переход от синих оттенков к красноватым на изображении с датчика, находившегося в контакте с водой. Это увеличение содержания кислорода в жидкости, наблюдаемое в восемь моментов отбора проб, показанных на Рисунке 5, происходило не за счёт выделения или дегазации кислорода из древесины, а за счёт кислорода из атмосферы. Этот вывод подтверждается нашим наблюдением, что концентрация растворённого кислорода увеличивалась одинаково как в клёпке, так и в жидкости.

Поскольку концентрация растворённого кислорода в воздухе, окружающем внешнюю сторону древесины (не отображаемое на изображениях), постоянна и равна 100% насыщения воздухом, кислород в жидкости внутри камеры возникал в результате формирования градиента растворённого кислорода от атмосферного воздуха к жидкости в камере, что наблюдается в

профиле растворённого кислорода. Следовательно, пермеация кислорода представляла собой процесс переноса массы, обусловленный градиентом концентрации, то есть градиентом парциального давления кислорода, который приводит к диффузии газа в пористом твёрдом теле в соответствии с законом Фика.

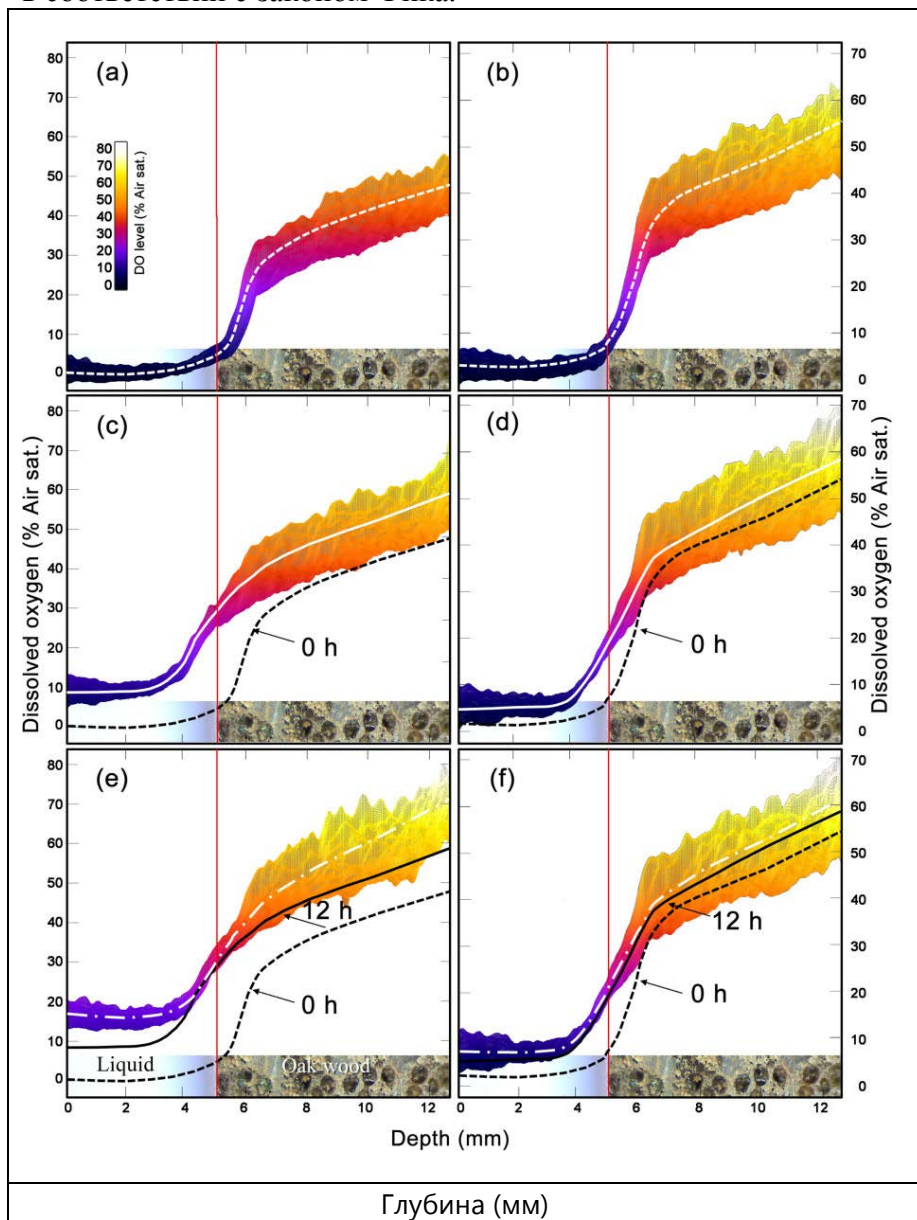


Рисунок 6. Профиль растворённого кислорода (РК) через (a,b) 0, (c,d) 12 и (e,f) 24 ч для дубового образца и жидкости в камере: (a,c,e) — сухая дубовая древесина; (b,d,f) — та же древесина, находившаяся в контакте с водой в течение 48 ч. Цветная полоса отображает диапазон (мин.— макс.) значений РК на различной глубине древесины. Красная вертикальная линия обозначает границу раздела жидкость/древесина. Для наглядности эволюции среднего профиля РК они сохранены на последующих частях рисунка, что позволяет сравнить изменение профиля во времени: (a,b) — 0 ч; (c,d) — 12 ч и (e,f) — 24 ч; цвет линий изменён для улучшения визуального восприятия.

По оси ординат – растворенный кислород в % от атмосферного.

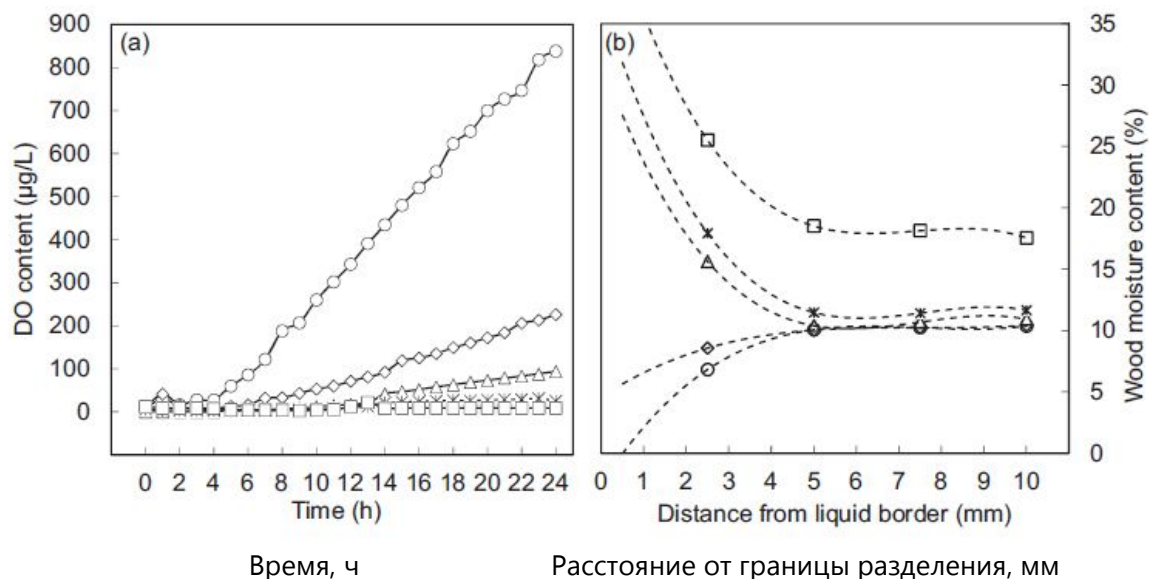


Рисунок 7. (a) Влияние времени контакта дуба с водой на перенос кислорода [измеряемый по концентрации растворённого кислорода (РК)] в течение 24 ч через дубовый образец и (b) на

влагосодержание дубового образца, измеренное от границы раздела жидкость–дубовый образец.

(а) Для выбранных экспериментов, проведённых на анализируемом образце древесины, время контакта дуба с водой варьировалось: 0 (○), 2 (◇), 7 (Δ), 12 (×) и 40 (□) дней, со значениями скорости переноса кислорода (OTR), рассчитанными по наклону соответствующих кривых: 304, 76, 32, 9 и 5 мг/(л·год) соответственно.

По оси ординат а) - Содержание РК (мкг/л). б) Влагосодержание древесины (%)

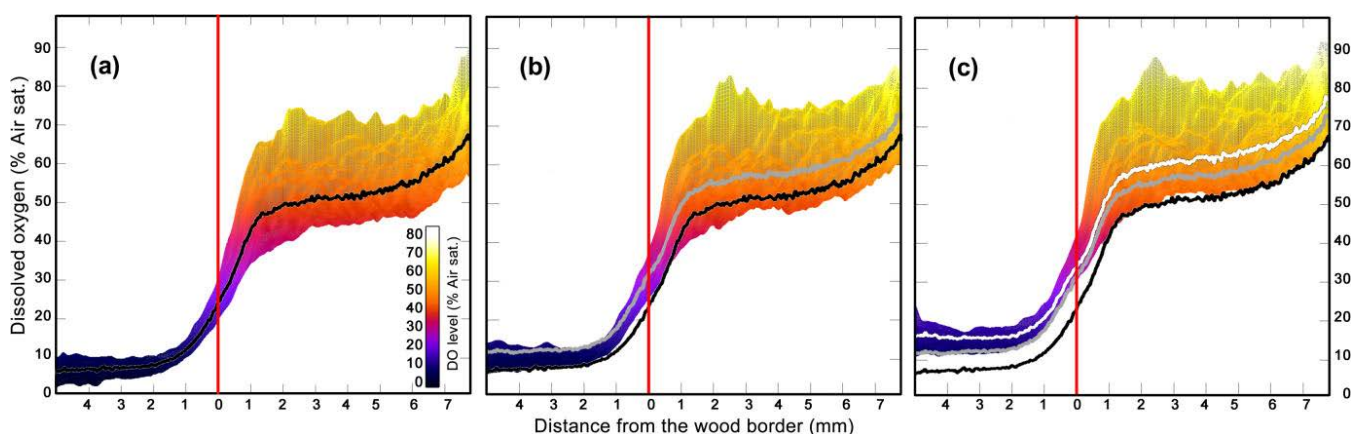
Во втором эксперименте использовался тот же образец древесины после 48 ч контакта с водой (Рисунок 6). Процесс дегазации был проведён повторно, как описано в разделе «Материалы и методы». Однако, в отличие от выраженного эффекта дегазации на сухой древесине, разница в содержании растворённого кислорода по толщине обожжённой зоны и остальной части древесины после дегазации была незначительной. Аналогично, процесс дегазации для остальной части древесины, включённой в изображение, был менее эффективным. Очевидно, что влагосодержание древесины изменилось после 48 ч контакта с жидкостью. Кроме того, известно, что диффузионная способность кислорода в клёпке снижается с увеличением влагосодержания (Soriz и Hietz, 2006). Профиль растворённого кислорода изменялся со временем, хотя и менее выражено, чем это наблюдалось для древесины, предварительно не контактировавшей с водой (сухая дубовая древесина). В этом случае профиль растворённого кислорода отражает увеличение концентрации растворённого кислорода по толщине древесины и в прилегающей жидкости. И снова наблюдаемый кислород поступал из внешнего воздуха, и его увеличение представляет собой диффузионный процесс, обусловленный разницей между парциальным давлением кислорода внешней среды (100% насыщение воздухом) и жидкости внутри бочки (менее 10% насыщения воздухом).

Измерение растворённого кислорода с помощью точечного датчика Pst6 в жидкости (Рисунок 1) позволило количественно оценить кислород, перенесённый в жидкость через древесину, и определить его эволюцию во времени. Как упоминалось ранее, использование чистой воды, которая, в отличие от вина, не потребляет кислород, позволило определить материальный баланс и скорость поступления кислорода в жидкость через древесину. Этот расчёт дал значение скорости переноса кислорода (OTR), которое в бондарном производстве обычно выражается в миллиграммах растворённого кислорода на литр жидкости за один год поступления в бочку. На Рисунке 7 показаны результаты расчётов для некоторых экспериментов, проведённых на анализируемом образце древесины, и чётко видно, что время контакта древесины с жидкостью в камере влияло на снижение скорости переноса кислорода через древесину. Этот эффект также наблюдался Вивасом и др. (2003) на образцах древесины меньшей толщины, чем клёпки, и не находившихся в контакте с жидкостью.

В экспериментах, проведённых при различном времени контакта с жидкостью (0, 2, 7, 12 и 40 дней) на одном и том же фрагменте клёпки, влагосодержание на первых 5 мм глубины древесины зависело от времени контакта с жидкостью. На глубине от 5 до 15 мм влагосодержание древесины равномерно увеличивалось с 10 до 18% после 40 дней увлажнения (Рисунок 7b). В течение первых 48 ч влагосодержание в первых 5 мм глубины было менее 10%, поскольку обожжённый слой древесины не достигал насыщения, что делало его значительно более проницаемым для кислорода. После первых 2 дней увлажнения этих первых слоёв становилось очевидным (Рисунок 7b), и проницаемость для кислорода значительно снижалась. Такое поведение наблюдается потому, что фронт пропитки формируется и располагается в пределах первых 5 мм для клёпок толщиной 25 мм (Feuillat, 1996). На глубине фронта жидкости (мм) влагосодержание древесины находится в состоянии свободной воды, поскольку достигнута точка насыщения волокна (FSP), которая для дуба в условиях эксперимента (15°C и 85% относительной влажности) составляет 29% (Kollmann и Côte, 1968). В остальной части древесины влага остаётся в гигроскопическом состоянии, то есть связана с целлюлозой, гемицеллюлозой или лигнином древесины (Siau, 1984). Модели, разработанные группой Руиса де Аданы (Ruiz de Adana и др., 2005), прогнозируют, что кинетика пропитки дубовых клёпок, из которых состоят бочки, замедляется с 40-го дня. На 40-й день начинается стационарная фаза, и для увеличения влагосодержания во внешней части клёпки после контакта с жидкостью на внутренней поверхности требуется 82 дня (Ruiz de Adana, 2002). По всей толщине клёпки (25 мм) перенос газа описывается законом Фика (поскольку отсутствует разность давлений между внутренней и

внешней поверхностями клёпки), и хотя в первых 5 мм клёпки влага находится в свободной форме, поток кислорода пренебрежимо мал в соответствии с законом Дарси. Таким образом, поскольку первые несколько миллиметров внутренней части клёпки контактируют с жидкостью, диффузия кислорода описывается коэффициентом диффузии кислорода в воде; в остальной части древесины диффузия описывается коэффициентом диффузии кислорода в воздухе, при этом коэффициент диффузии кислорода в насыщенном воздухе в 10820 раз (или $10,82 \times 1000$) больше, чем в воде при 15°C (Denny, 1993).

Эксперименты, проведённые после 7 и 12 дней увлажнения, показали ту же зависимость скорости переноса кислорода от влагосодержания древесины, хотя и в более выраженной форме, поскольку в обоих экспериментах точка насыщения волокна достигала внутренней поверхности клёпки. Наконец, был проведён эксперимент на древесине после 40 дней контакта клёпки с жидкостью, который дал чрезвычайно низкие значения скорости переноса кислорода (Рисунок 7а). Этот результат показал, что скорость переноса кислорода через древесину снижается с увеличением влагосодержания древесины. Это снижение может объяснить потерю 98% скорости переноса кислорода, поскольку в последнем эксперименте древесина демонстрировала скорость переноса кислорода 5 мг/(л·год) (Рисунок 7а), что значительно отличалось от исходного значения 304 мг/(л·год). После анализа скорости переноса кислорода этого образца древесины в течение 12 дней после 40 дней увлажнения было отмечено, что, хотя диффузия кислорода замедлилась, что привело к снижению скорости оксигенации (Рисунок 7а), оксигенация не прекратилась. Этот результат указывает на то, что даже когда древесина клёпки достигает точки насыщения волокна в зоне, контактирующей с жидкостью, поток кислорода из внешней среды в жидкость всё ещё происходит. Таким образом, мы подтвердили, что пермеация кислорода продолжается в древесине, когда часть её влагосодержания находится в свободной форме.



Расстояние от границы древесины, мм

Рисунок 8. Профиль растворённого кислорода (РК) по поверхности клёпки в зависимости от положения на клёпке и в жидкости в зависимости от расстояния до древесины на том же образце после 40 дней контакта с жидкостью. Красная вертикальная линия обозначает границу раздела жидкость/древесина. По оси ординат растворенный кислород в % от атмосферного.

В начале эксперимента (день 0), после запуска протокола дегазации, первые несколько миллиметров клёпки, контактирующие с жидкостью (Рисунок 8), подвергались менее эффективной дегазации, чем предыдущие образцы (Рисунок 6). В этой области влага в древесине находится в свободной форме, и диффузионная способность кислорода резко снизилась после начала (жидкость–древесина–воздух). Поэтому в данной работе использовался именно этот протокол (Del Alamo Sanza и Nevares Domínguez, 2012) для оценки скорости переноса кислорода в бочках. В работе Виваса и др. (2003) использовалась система газ–древесина–газ в соответствии с рекомендациями, установленными для испытаний проницаемости мембран. Такой протокол не воспроизводил реальные условия работы клёпок в бочке, поскольку не учитывался эффект водонасыщения.

Выводы

Кислородная визуализация является ценной технологией для изучения динамики кислорода в древесине и позволила визуализировать перенос кислорода через водонасыщенную влажную древесину, подтвердив, что древесина французского дуба проницаема для кислорода. Когда древесина содержит воду в свободной форме, наблюдается поступление кислорода в жидкость, контактирующую с клёпкой, что подтверждает, что кислород диффундирует из внешней среды и не является продуктом процесса дегазации древесины.

Скорость переноса кислорода через древесину от внешней стороны к внутренней стороне клёпки была измерена в условиях, аналогичных условиям работы в бочке, с учётом водонасыщения древесины, которое является ключевым фактором в диффузии кислорода через древесину.

Благодарности

Выражаем благодарность Министерству экономики и конкурентоспособности Испании за финансовую поддержку (MINECO AGL2011-26931) и компании PreSens GmbH за временное предоставление системы VisiSens.

Ссылки

- ASTM (2005) D3985-05. Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor (ASTM International: West Conshohocken, PA, USA).
- ASTM (2007a) F1307-02. Standard test method for oxygen transmission rate through dry packages using a coulometric sensor (ASTM International: West Conshohocken, PA, USA).
- ASTM (2007b) F1927-07. Standard test method for determination of oxygen gas transmission rate, permeability and permeance at controlled relative humidity through barrier materials using a coulometric detector (ASTM International: West Conshohocken, PA, USA).
- Del Alamo-Sanza, M. and Nevares Domínguez, I. (2012) Device for measuring the permeability and diffusivity of gases in porous materials and method for measuring said parameters using the device. WO2012107625 A1 in European Patent Office.
- Del Hierro, A.M., Kronberger, W., Hietz, P., Offenthaler, I. and Richter, H. (2002) A new method to determine the oxygen concentration inside the sapwood of trees. *Journal of Experimental Botany* **53**, 559–563.
- Denny, M.W. (1993) *Air and water: the biology and physics of life's media* (Princeton University Press: Princeton, NJ, USA).
- Fernandez, B. (2013) *Determinación del frente de humedad de agua y alcohol en la madera para la fabricación de duelas de barricas de vino*. Master Thesis, Universidad de Valladolid., Palencia, Spain, 299 pp.
- Feuillat, F. (1996) *Contribution à l'étude des phénomènes d'échanges bois/vin/atmosphère à l'aide d'un 'fût' modèle. Relations avec l'anatomie du bois de chêne (Quercus robur L., Quercus petraea Liebl.)*. PhD Thesis, Ecole Nationale du Génie Rural des Eaux et des Forêts, Nancy, France, 396 pp.
- Graff, G.L., Williford, R.E. and Burrows, P.E. (2004) Mechanisms of vapor permeation through multilayer barrier films: lag time versus equilibrium permeation. *Journal of Applied Physics* **96**, 1840–1849.
- Hugi, E., Wuersch, M., Risi, W. and Wakili, K. (2007) Correlation between charring rate and oxygen permeability for 12 different wood species. *Journal of Wood Science* **53**, 71–75.

- Kautsky, H. (1939) Quenching of luminescence by oxygen. *Transactions of the Faraday Society* **35**, 216–219.
- Kelly, M. and Wollan, D. (2003) Micro-oxygenation of wine in barrels. *The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker* **473a**, 29–30, 32.
- Klimant, I., Ruckruh, F., Liebsch, G., Stangelmayer, A. and Wolfbeis, O.S. (1999) Fast response oxygen micro-optodes based on novel soluble ormosil glasses. *Mikrochimica Acta* **131**, 35–46.
- Kollmann, F.F.P. and Côte, W.A. (1968) Principles of wood science and technology, 1. Solid wood (Springer-Verlag: New York, NY, USA).
- Kühl, M., Rickelt, L.F. and Thar, R. (2007) Combined imaging of bacteria and oxygen in biofilms. *Applied and Environmental Microbiology* **73**, 6289–6295.
- Moutounet, M., Mazauric, J.P., Saint-Pierre, B., Micallef, J. and Sarris, J. (1994) Causes et conséquences de microdéformations des barriques au cours de l'élevage des vins. *Revue des Oenologues* **74**, 34–39.
- Moutounet, M., Mazauric, J.P., Saint-Pierre, B. and Hanocq, J.F. (1998) Gaseous exchange in wines stored in barrels. *Journal des Sciences et Techniques de la Tonnellerie* **131–145**, 115–129.
- Nevares, I., del Alamo, M. and Gonzalez-Muñoz, C. (2010) Dissolved oxygen distribution during micro-oxygenation. Determination of representative measurement points in hydroalcoholic solution and wines. *Analytica Chimica Acta* **660**, 232–239.
- Peterson, R. (1976) Research note: formation of reduced pressure in barrels during wine aging. *American Journal of Enology and Viticulture* **27**, 80–81.
- Piringer, O.G. and Baner, A.L. (2000) Plastic packaging materials for food : barrier function, mass transport, quality assurance, and legislation (Wiley-VCH: Weinheim, NY, USA).
- Ribéreau-Gayon, J. (1933) Contribution à l'étude des oxydations et réductions dans les vins (Delmas: Bordeaux, France).
- Ruiz de Adana, M. (2002) Aplicación de la dinámica de fluidos computacional al control de las mermas de vino en naves de crianza climatizadas. PhD Thesis, Universidad de La Rioja, La Rioja, Spain, 243 pp.
- Ruiz de Adana, M., López, L.M. and Sala, J.M. (2005) A Fickian model for calculating wine losses from oak casks depending on conditions in ageing facilities. *Applied Thermal Engineering* **25**, 709–718.
- Siau, J.F. (1984) Transport processes in wood (Springer-Verlag: Berlin, Germany).
- Siau, J.F. (1995) Wood: influence of moisture on physical properties (Department of Wood Science and Forest Products, Virginia Polytechnic Institute and State University: Blacksburg, VA, USA).
- Singleton, V.L. (1995) Maturation of wines and spirits: comparisons, facts, and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture* **46**, 98–115.
- Sorz, J. and Hietz, P. (2006) Gas diffusion through wood: implications for oxygen supply. *Trees – Structure and Function* **20**, 34–41.
- Sorz, J. and Hietz, P. (2008) Is oxygen involved in beech (*Fagus sylvatica*) red heartwood formation? *Trees* **22**, 175–185.
- Tschiersch, H., Liebsch, G., Stangelmayer, A., Borisjuk, L. and Rolletschek, H. (2011) Planar oxygen sensors for non invasive imaging in experimental biology. Minin, I., ed. *Microsensors* (Intech Europe: Rijeka, Croatia) pp.281–294.
- Tschiersch, H., Liebsch, G., Borisjuk, L., Stangelmayer, A. and Rolletschek, H. (2012) An imaging method for oxygen distribution, respiration and photosynthesis at a microscopic level of resolution. *The New Phytologist* **196**, 926–936.
- Vivas, N. and Glories, Y. (1996) Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *American Journal of Enology and Viticulture* **47**, 103–107.
- Vivas, N. and Glories, Y. (1997) Modélisation et calcul du bilan des apports d'oxygène au cours de l'élevage des vins rouges. II. Les apports liés au passage d'oxygène au travers de la barrique. *Progress Agricole et Viticole* **114**, 315–316.
- Vivas, N., Debèda, H., Ménil, N., Vivas de Gaulejac, N. and Nonier, M. (2003) Mise en évidence du passage de l'oxygène au travers des douelles constituant les barriques par l'utilisation d'un dispositif original de mesure de la porosité du bois. Premiers résultats. *Sciences Des Aliments* **23**, 655– 678.

Wang, X.-D. and Wolfbeis, O.S. (2012) Fiber-optic chemical sensors and biosensors (2008–2012). *Analytical Chemistry* **85**, 487–508.

Рукопись получена: 5 декабря 2013 г.

Переработанная рукопись получена: 7 мая 2014 г.

Принята к публикации: 19 мая 2014 г.